

INTRODUCING METHOD FOR SAMPLE INTO LIQUID CHROMATOGRAPHY

Patent Number:

JP62050659

Publication date:

1987-03-05

Inventor(s):

SAITO KATSUHIKO; others: 01

Applicant(s)::

SHIMADZU CORP

Requested Patent:

JP62050659

Application Number:

JP19850191689 19850829

Priority Number(s):

IPC Classification:

G01N30/16 ; G01N35/08

EC Classification:

Equivalents:

Abstract

PURPOSE: To reduce the loss at the time of sample injection and to inject the sample into a column by sandwiching the specific amount of sample between air bubbles when sucking the sample into a sample intake passage and filling only the sample in a sample loop, and then injecting the sample into the column.

CONSTITUTION: The flow passage connecting with a cleaning pump 22 from the tip of a sample suction stylus 30 through a six-port valve 10 and a three-way valve 12 is filled with cleaning liquid for cleaning before the sample is sucked in. The sample stylus 30 is inserted into a sample bottle 44 and the sample a little bit more than the amount V0 of sample injected into the column is sucked. The stylus 30 is extracted from the bottle 44 and air 54 is sucked through a syringe 18 for measurement until the tip of the sample 50 reaches the X point of the port 1 of the valve 10. The valve 10 is rotated counterclockwise to link ports 2, 3 and 4, and 5 and 6 mutually, and the sample is sucked into the sample loop 32 by the amount V0 through the syringe 18. The valve is rotated clockwise to link ports 1 and 2, 3 and 4, and 5 and 6 and the sample in the loop 32 is injected into the column 34 through a return pump 40.

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-50659

⑬ Int. Cl.⁴G 01 N 30/16
35/08

識別記号

庁内整理番号

7621-2G
8506-2G

⑭ 公開 昭和62年(1987)3月5日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 液体クロマトグラフへの試料導入方法

⑯ 特 願 昭60-191689

⑰ 出 願 昭60(1985)8月29日

⑱ 発 明 者 齊 藤 勝 彦 京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所三
条工場内⑲ 発 明 者 丸 山 秀 三 京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所三
条工場内

⑳ 出 願 人 株式会社島津製作所 京都市中京区河原町通二条下ル一ノ船入町378番地

㉑ 代 理 人 弁理士 野口 繁雄

明 細 書

1. 発明の名称

液体クロマトグラフへの試料導入方法

2. 特許請求の範囲

(1) 試料吸入流路と計量用シリンジとの接続、
試料吸入流路、サンプルループ及び計量用シリ
ンジの接続、並びに移動相流路、サンプルループ及
びカラムの接続が切換えバルブにより切り換えら
れてカラムへ試料が導入される試料導入装置を用
い、

前記試料吸入流路へ試料を吸引する際、所定量
の試料の前後を気泡で挟み、

前記サンプルループへは試料のみを充填した後、
前記カラムに試料を導入することを特徴とする液
体クロマトグラフへの試料導入方法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は試料導入装置を用いて液体クロマト
グラフへ試料を導入する方法に関するものである。

(従来技術)

第1図に液体クロマトグラフの試料導入装置の
例を示す。

10は切換えバルブとしての六ポートバルブで
ある。六ポートバルブ10のポート1には三ウエ
イバルブ12を介して流路14又は16が接続さ
れている。流路14は計量用シリンジ18に接続
されているとともに、電磁弁20を介して洗浄ポ
ンプ22に接続されている。24は洗浄液である。
三ウエイバルブ12につながる他の流路16は逆
止弁26を経てドレインに導かれている。

六ポートバルブ10のポート2には試料吸入流
路28が接続され、その試料吸入流路28の先端
には試料吸入針30が設けられている。六ポート
バルブ10のポート3とポート6の間にはサンプ
ルループ32が接続されている。また、六ポート
バルブ10のポート4にはカラム34が接続され、
そのカラム34の出口には検出器36が設けられ
ている。六ポートバルブ10のポート5には移動
相リザーバ38中の移動相を供給する送液ポンプ
40が接続されている。ポート4とポート5の間

には六ポートバルブ切換え時の圧力変化を緩和する抵抗管42が設けられている。44は試料瓶、46は洗浄ポートである。

この試導入装置を用いてカラム34に試料を導入するには、まず六ポートバルブ10と三ウェイバルブ12が図の状態に設定されて試吸入針30が洗浄ポート46に挿入され、電磁弁20が開いて洗浄ポンプ22が動作し流路が洗浄される。

次に、電磁弁20が閉じた後、試料吸入針30が試料瓶44に挿入され、計量用シリンジ18により試料が吸引される。このとき、吸引された試料の先端の広がりをもたない部分が六ポートバルブ10のポート1のところまでくる。

六ポートバルブ10が反時計方向に回転させられてポート2と3、ポート4と5、ポート6と1が導通した後、計量用シリンジ18によってカラムに導入すべき試料量だけサンプルループ32に試料が吸引される。サンプルループ32への試料の吸引が終ると、六ポートバルブ10が時計方向に回転させられて図のようにポート1と2、ポ

ート3と4、ポート5と6が導通するように切り換わり、サンプルループ32内の試料は送液ポンプ40から移動相により押し流され、カラム34に導入される。

流路16は例えば設定された試料吸引量が計量用シリンジ18の1ストロークの吸引量より多い場合などに使用される。その場合、三ウェイバルブ12は一旦ポート8と9が導通する位置に切り換えられた後、計量用シリンジ18内の液がドレインに排出され、再び三ウェイバルブ12はポート7と8が導通する位置に切り換えられ計量用シリンジ18による試料の吸引が行なわれる。

(発明が解決しようとする問題点)

第1図の試料導入装置を上記のように動作させるとき、試料吸入針30の先端から六ポートバルブ10のポート1に至る試料吸入流路に吸入された試料は、次の試料導入までに洗浄ポート46からドレインへ排出され、試料ロスとなる。

ところで、最近の液体クロマトグラフの分野では、例えば生体試料などのように貴重で、かつ、

少量しかない試料を、検出感度が十分でないためにその試料の全量をカラムに導入したいという要求が強くなっている。しかし、従来の試料導入方法では上に述べたように試料注入時のロスが多く、このような要求を満たすことができない。

また、試料をカラムに導入する際、気泡(空気)が試料とともにカラムに入らないようにしなければならない。液体クロマトグラフの検出器として紫外分光光度計を用い、検出波長を短波長(例えば210nm)に設定したような場合、クロマトグラム上に空気のピークが現れる。第2図に示されるクロマトグラムでは、ピークP₁はベンゼン、P₂はナフタリン、P₃はジフェニル、P₄は溶媒、P₅は空気である。図中の数値は保持時間である。このようにカラムに気泡が入ると、クロマトグラムの保持時間が空気と接近している試料成分の測定や定量ができなくなる。

本発明は、液体クロマトグラフへの注入時のロスをなるべく少なくして試料をカラムに導入する試料導入方法を提供することを目的とするもので

ある。

(問題点を解決するための手段)

本発明は、第1図には示されるような試料吸入流路(28)と計量用シリンジ(18)との接続、試料吸入流路(28)、サンプルループ(32)及び計量用シリンジ(18)の接続、並びに移動相流路(37)、サンプルループ(32)及びカラム(34)の接続が切換えバルブ(10)により切り換えられてカラム(34)へ試料が導入される試料導入装置を用いる試料導入方法であって、試料吸入流路(28)へ試料(50)を吸引する際、所定量の試料(50)の前後を気泡(52, 54)で挟み、サンプルループ(32)へは試料(50)のみを充填した後、カラム(34)に試料(50)を導入するようにした方法である。

(実施例)

第1図の試料導入装置を用いて、一実施例を工程順に説明する。

試料が吸入される前に流路が洗浄される。そのため、六ポートバルブ10と三ウェイバルブ12

は図に示される状態になっており、試料吸入針 30 の先端から洗浄ポンプ 22 へつながる流路は洗浄液で満たされている。

(1) 試料吸入針 30 が試料瓶 44 に挿入される前に、計量用シリンジ 18 により空気 52 (容積 $2 \sim 3 \mu\text{L}$) が吸引される。

(2) 試料瓶 44 に試料吸入針 30 が挿入され、カラムに導入される試料量 $V_0 \mu\text{L}$ より少し多め量 ($V_0 + 2\alpha$) μL の試料が吸引される。

(3) 試料吸入針 30 が試料瓶 44 から抜かれ、計量用シリンジ 18 により空気 54 が吸引され、試料 50 の先端が六ポートバルブ 10 のポート 1 の計量用シリンジ 18 側の X 点の位置にくるまで吸引される。六ポートバルブ 10 のポート 1 の出口 Y 点から X 点までの流路の容積が $\alpha \mu\text{L}$ である。

(4) この状態で、六ポートバルブ 10 が反時計方向に回転させられ、ポート 2 と 3、ポート 4 と 5、ポート 6 と 1 が導通させられ、計量用シリンジ 18 によりサンプルループ 32 中にカラムに導

入すべき量 $V_0 \mu\text{L}$ の試料が吸引される。

(5) 六ポートバルブ 10 が 計方向に回転させられてポート 1 と 2、ポート 3 と 4、ポート 5 と 6 が導通させられると、サンプルループ 32 中の試料は送液ポンプ 40 からの移動相により押し出されてカラム 34 に導入される。

(6) 試料吸入針 30 が洗浄ポート 46 に挿入され、試料先端部と後端部にあった試料 $2\alpha \mu\text{L}$ の試料と空気は、電磁弁 20 が開くことにより洗浄ポンプ 20 により供給される洗浄液により洗い流される。

以上の動作は、試料吸入針 30 の先端から六ポートバルブ 10 のポート 1 の出口 Y 点までの容積を予め測定しておくことにより、コントローラからの制御により自動的にこなうことができる。

以上の実施例では、切換えバルブとして六ポートバルブを使用しているが、それに限られるものではない。

(発明の効果)

従来の試料導入方法によれば、試料吸入針の先端から切換えバルブまでの流路容積が試料ロスとなっていた。しかし、本発明の試料導入方法によれば、試料吸入針の先端から切換えバルブまでの流路容積の大小に関係なく、試料注入時の試料ロス (2α) を $1 \sim 2 \mu\text{L}$ にまで減少させることができる。そのため、液体クロマトグラフの分野で多く用いられる貴重な生体試料などのカラムへの導入に非常に有効である。

4. 図面の簡単な説明

第 1 図は本発明方法が実施される液体クロマトグラフの試料導入装置の一例を示す概略図、第 2 図は空気も注入された液体クロマトグラムを示す図である。

- 10 …… 切換えバルブとしての六ポートバルブ、
- 18 …… 計量用シリンジ、
- 28 …… 試料吸入流路、
- 32 …… サンプルループ、
- 34 …… カラム、

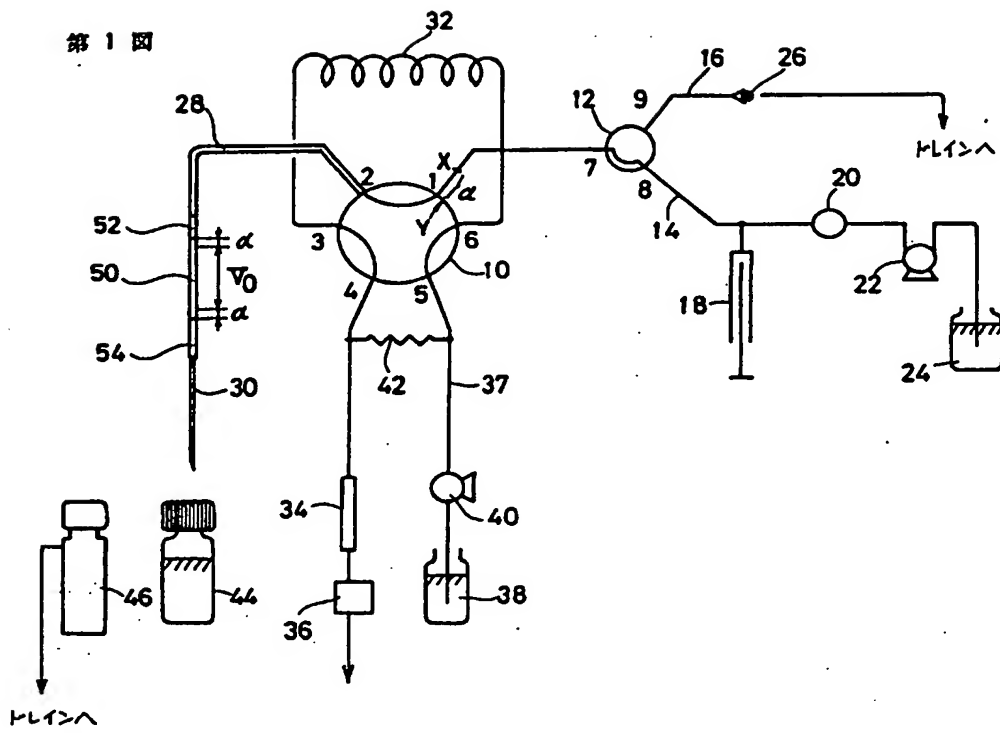
37 …… 移動相流路、

50 …… 試料、

52, 54 …… 気泡、

代理人 弁理士 野口繁雄

第 1 図



第 2 図

